

Acta Medica Okayama

Volume 7, Issue 2

1942

Article 1

MÄRZ 1943

Über eigentümliche Kerneinschlüsse in Gehirn und Nasenschleimhaut von an japanischer bzw. amerikanischer epidemischer Encephalitis erkrankten Mäusen. : Studien über virusspezifische Kerneinschlüsse. II

Y. Hamazaki*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Aus dem Pathologischen Institut der Med. Fakultät Okayama
(Direktor: Prof. Dr. O. Tamura).

Über eigentümliche Kerneinschlüsse in Gehirn und Nasenschleimhaut von an japanischer bzw. amerikanischer epidemischer Encephalitis erkrankten Mäusen.

(Studien über virusspezifische Kerneinschlüsse. II.)

Von

Y. Hamazaki.

Eingegangen am 27. Oktober 1941.

Einleitung.

Seit 1933 habe ich mich völlig der karyopathologischen Forschung gewidmet und vor einigen Jahren habe ich (1938)¹ ein Werk über histochemische Forschungsmethoden der Öffentlichkeit übergeben können. Was die Karyopathologie im allgemeinen anbelangt, so wurde sie nach den Arbeiten von *Schmaus* und *Albrecht*² lange außer acht gelassen und hat erst jüngst wieder die gebührende Würdigung dadurch gefunden, daß mehrere Erforscher der Viruserkrankheiten (*Lipschütz*,⁴ *Luger* u. *Lauda*, *Haagen* u. *Kodama*, *Akazaki* u. a.) sich neuerlich ihr zuwandten.

Auch ich, der ich mit meinen Mitarbeitern (*Konishi*, *Tamaru*, *Mifune*, *Matsuda*, u. a.) bereits auf allerlei Gebieten karyopathologische Untersuchungen vorgenommen hatte, habe diesmal karyopathologische Studien über die Viruserkrankheiten unternommen und dabei mit Studien über die japanische und amerikanische Encephalitis epidemica angefangen. Die Viruserkrankheiten nehmen nämlich infolge der bei ihnen auftretenden „spezifischen Kernveränderung“ d. h. der Bildung von Kerneinschlüssen im Bereich der Pathologie eine besondere Stellung ein. In der Literatur kann man nennenswerte karyopathologische Studien über Encephalitis (wie auch über andere Krankheiten kaum finden). Eine glänzende Ausnahme davon machen nur die Untersuchungen über die *Joest-Degenschen* Körperchen der *Bornaschen* Krankheit.

Inbezug auf die amerikanische Encephalitis epidemica kann man wohl sagen, daß sie karyopathologisch noch gar nicht erforscht ist. Eben zu der Zeit, da *Webster* und *Fite*³ im Zusammenhang mit ihren Versuchen, das Virus der Encephalitis auf Mäuse zu übertragen, auch darüber berichteten, daß sie im Hirngewebe der erkrankten Mäuse zufällig eine Art Kerneinschlüsse beobachtet hatten, fand die Spezifität dieser Einschlüsse keine Beachtung mehr. Andererseits haben damals *Smadel* und *Moore*⁴ auf Grund ihrer Untersuchungen am Hirngewebe von encephalitischen Mäusen das Vorhandensein der Einschlusskörperchen entschieden verneint. Bei uns in Japan gelang es *Taniguchi*,⁵ das Virus der Encephalitis epidemica japonica experimentell auf die

Hornhaut von Kaninchen zu übertragen. Er berichtete dabei, daß er in den Ausstrichpräparaten des Epithels Mikroorganismen fand, die den *Paschenschen* Körperchen glichen und die die Bildung anscheinend typischer *Guarnierischer* Körperchen hervorriefen. Dagegen hielt *Kawamura*⁶ das Virus der Encephalitis für unsichtbar. *Takase*⁷ gab in einer vorläufigen Mitteilung bekannt, daß er bei encephalitischen Mäusen in den Nervenzellen des Gehirns, in den Epithelzellen des Plexus chorioideus, in den Gliazellen, in den Wandzellen der Blutgefäße usw. Kerneinschlüsse beobachten konnte, welche in der Hirngrundsubstanz, insbesondere in den perivaskulären Räumen in großer Menge zerstreut oder haufenweise vorhanden waren. *Ikeda*⁸ berichtet über merkwürdige Zelleinschlüsse bei encephalitischen Mäusen, welche morphologisch wenig charakterisiert sind: einmal sind sie *Lipschützchen* Körperchen ähnlich, ein andermal *Torresschen* oder auch *Joest-Degenschen*. Ferner fanden *Lucksch*,⁶ *Dawson*,¹⁰ u. a. bei lethargischer Encephalitis im Hirngewebe nichts als nur unspezifische Einschlüsse vor. Es ist daher kein Wunder, daß man das Vorhandensein der spezifischen Einschlüsse, soweit es sich um die menschliche epidemische Encephalitis handelt, für durchaus fraglich hält (*Haagen*).¹¹

Trotz alledem konnten wir durch karyopathologische Untersuchungen an encephalitischen Mäusen im Gehirn und in der Nasenschleimhaut Kerneinschlüsse, welche für die japanische und amerikanische Encephalitis spezifisch sind, eindeutig und klar nachweisen. Die I. Mitteilung darüber erfolgte im letzten Monat.¹²

Methoden.

Gesunde Mäuse von ca. 10 gr. lieferten das Hauptmaterial. Als Virus der japanischen epidemischen Encephalitis wählte ich 1) den Stamm unseres pathologischen Instituts, 2) den Stamm der inneren Klinik von *Kitayama*. Die beiden Stämme waren fixiertes Virus, das durch die lange Jahre fortgesetzte Passage durch Mäuse so hochvirulent geworden war, daß es durch intrakraniale oder -nasale Applikation als 10%ige Hirnemulsion innerhalb von 3–6 Tagen die Encephalitis hervorrief, die 1–2 Tage später die Tiere zum Tode führte. 3) Auch ein neuer Stamm (*Sato*-Stamm), der in diesem Sommer aus der Zerebrospinalflüssigkeit der in die Klinik von *Kitayama* aufgenommenen Patienten entnommen worden war, wurde mir zur Verfügung gestellt. Die damit geimpften Mäusegehirne der aufeinanderfolgenden Tierpassagen wurden von der ersten Generation an fortwährend untersucht.

Für die Untersuchung amerikanischer epidemischer Encephalitis konnten wir zwei Stämme benutzen: 4) Der eine, der im *Kitasato*-Institut aufbewahrt war, heißt St. Louis-Stamm und wurde mir liebenswürdigerweise von Prof. Dr. *Kawamura* zugeteilt. Der andere war 5) ein St. Louis-Stamm, den die Kaiserliche Universität Tōkyō im Institut für Infektionskrankheiten aufbewahrt hatte, er wurde mir von Prof. Dr. *Kitayama* bereitwillig zur Verfügung gestellt,

Die Impfungen wurden hauptsächlich durch nasale Instillation, zum Teil auch durch intrakraniale sowie intraperitoneale Inokulation vorgenommen. Die erkrankten Mäuse wurden erst nach der Vollentwicklung der Krankheit getötet: von den infizierten Mäusen, bei denen die Infektion erst nach dem Verenden festgestellt wurde, haben wir nur diejenigen untersucht, bei denen das Hirn noch nicht der Erweichung verfallen war. Bis heute wurde die Untersuchung insgesamt im 180 Fällen ausgeführt; weitere Versuche sind noch im Gange.

Die Kontrollversuche haben wir mit der größten Vorsicht ausgeführt: 1. Die Aufschwemmung der Reinkultur der *Bac. coli communis* mit physiologischer Kochsalzlösung wurde intrakranial injiziert. Wenn 48 Stunden später noch kein Hirnsymptom auftrat, wurde die Injektion wiederholt. Beim Auftreten der Symptome wurden die Mäuse je nach dem Grad der Intensität 24–48 Stunden später getötet. 2. Die Reinkulturaufschwemmung der Heubazillen wurde an fünf aufeinanderfolgenden Tagen je 1 mal injiziert und die Mäuse wurden nach Ablauf von 24 Stunden getötet. Die Hirnsymptome traten bei den Tieren im allgemeinen nur in leichterem Grade auf. 3. Steriles Bouillon-Nährmedium wurde täglich einmal 5 Tage nacheinander intrakranial injiziert. Die Mäuse wurden 24 Stunden nach der letzten Injektion getötet. In diesem Falle trat bei den Tieren kein Hirnsymptom auf. 4. Die 10%ige Emulsion aus Hirn von gesunden Mäusen in physiologischer Kochsalzlösung wurde in Intervallen von je 1 Tag 3 mal injiziert. Nach Ablauf von 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Mäuse getötet. Es wurden außerdem, 5. die Mäuse, die während der Züchtung aus unbekannten Ursachen verendeten, sowie 6. gesunde Mäuse usw. untersucht. Die Kontrollversuche wurden somit in insgesamt 53 Fällen ausgeführt.

Für die Erhärtung des Hirns und der anderen Gewebe haben wir unter Befolgung meiner karyopathologischen Untersuchungsmethode das *Müller-Eisessig-Gemisch*, *Zenkers Gemisch* u. s. w. und mit *Cuprum sulfuricum anhydricum* versetzten absoluten Alkohol (*Cu-Alkohol*) angewandt. Zur Kontrolle wurde die Fixierung in Neutralformol und Sublimat-Alkohol vorgenommen.

Von den so gehärteten Geweben wurden Paraffinschnitte hergestellt und diese dann folgenden Färbungen unterworfen. 1. *Hämatoxylin-Eosin (H·E)-Färbung*: Die Hämatoxylinfärbung wurde regressiv sowie progressiv vorgenommen. 2. *Triazidfärbung nach Heidenhain*. 3. *Mannsche Färbung*. 4. *Feulgensche Reaktion*.¹³ 5. *Karbolfuchsin-Jod-Methode nach Hamazaki*.¹⁴ 6. *Brillant-Azurin B. Färbung*.¹⁵ 7. sog. *Globulinfärbung mittels Safranin-Tanninsäure-Methode nach Unna*.¹⁶ 8. *Giemsa-Färbung* und ihre Modifikationen,

9. May-Grünwaldsche Färbung. 10. Kernechtrot-Methylgrün-Färbung. 11. Berlinerblaureaktion. 12. Ciacciosche Färbung. 13. Anilinwasser-Dahlia-Methode.¹⁷ 14. Nisslbild nach *Lenhossék*.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die zu diesen Versuchen ausgewählten Virus der epidemischen Encephalitis haben so starke Virulenz für Mäuse, daß die Morbidität sehr hoch ist und die klinischen Symptome gut ausgeprägt sind. Die histo-pathologischen Befunde am Mäusegehirn entsprechen den bisherigen Berichten der japanischen und amerikanischen Autoren, indem sie als solche der nicht eitrigen Meningoencephalomyelitis angesprochen werden können. Die wichtigen Gewebsveränderungen sind folgende: perivaskuläre Infiltration, mantelförmige Ansammlung zahlreicher Lymphozyten und Monozyten im *Virchow-Robinschen* Raum, diffuse Vermehrung der Gliazellen und ihre Imitation der Gliaknoten, verschiedene Degenerationen der Nervenzellen bis zur Nekrose etc. Solche Veränderungen traten mehr diffus im Gehirn auf, aber die graue Substanz des Lobus piriformis und des Temporallappens, Ammonshorn, Bulbus olfactorius, Zwischenhirn, Mittelhirn, Pons, u. s. w. waren bevorzugt. Es besteht keine Schwierigkeit, im mikroskopischen Präparat epidemische und spontane Encephalitis der Mäuse (*Cowdry* und *Nicholson*¹⁸) auseinanderzuhalten, weil sich die letztere als eine mehr herdförmige Entzündung darstellt. So erweist sich die hier behandelte Encephalitis als echte epidemische japanische bzw. amerikanische Encephalitis. Im Interesse der Sicherheit habe ich auch die in einem anderen Institut mit Encephalitis infizierten Mäuse, welche liebenswürdigerweise Herr Prof. *Kitayama* zur Verfügung gestellt hatte, untersucht und bewiesen, daß die allgemeinen histo-pathologischen Befunde und sogar die spezifischen Kerneinschlüsse mit denen meiner Versuchstiere übereinstimmen.

Allgemeiner mikroskopischer Befund der Kerneinschlüsse: Bei allen virusinfizierten Fällen habe ich ohne Ausnahme Kerneinschlüsse in den Epithelzellen des Plexus chorioideus und in Gliazellen gefunden. Ihre Größe beträgt 3–5 μ , selten erreichen sie bis 8 μ . Sie sind rundlich, aber auch oft oval gestaltet. Ihre Konturen sind scharf abgesetzt, aber nicht tropfig, sondern etwas zackig. Einige Einschlüsse haben maubbeerartiges Aussehen, indem sie aus vielen kleinen Granula bestehen. Mit dem Auftreten des Kerneinschlusses ist der Schwund der Chromatinsubstanz um den Kerneinschluß so auffallend, daß die beiden durch einen deutlichen Hohlraum voneinander scharf abgesetzt sind, ohne daß der Einschluß mit irgendeiner Chromatinhülle bekleidet wird. Dies ist das einfachste und praktischste Merkmal für die Unterscheidung zwischen dem Kerneinschluß und dem ihm ähnlichen, aus reiner Kernsubstanz bestehenden Gebilde, ein Punkt, den ich später noch einmal berühren möchte. In der Regel findet sich bei alleinigem Vorhandensein des Einschlusses in einem Kern,

abgesehen von der Chromatinabnutzung keine nennenswerte Kerndegeneration, wenn die Entzündungsprozesse der umgebenden Gewebe nicht erheblich sind. Durch die Volumzunahme des Einschlusses wird der ringförmige Hohlraum vergrößert, das Chromatin nach außen verdrängt, es schmiegt sich an der Kernmembran an und bildet eine Art Kernwandhyperchromatose.



Abb. 1. Plexus chorioideus d. Maus Nr. 66. (St. Louis-Stamm). Zahlreiche grobe scharf begrenzte Kerneinschlüsse d. Epithelzellen. (Cu-Alkohol. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Zeiss, Obj. E 2,8 mm, Ok. 7X. Kameralänge. 38 cm).

Bei H·E-Färbung des mit Cu-Alkohol fixierten Materials zeigt sich der Kerneinschluß als tiefrot leuchtendes, fest gebautes Körperchen. Wenn man Cu-Alkohol zur Fixation verwendet, so bekommt man sehr tief tingierbare Chromatinstränge und hellrot gefärbte Einschlüsse, indem durch das Basichromatin das Oxychromatin zusammen mit den Kernkörperchen verdeckt wird, weil absoluter Alkohol, wie *Heidenhain* schon bemerkt hat, unter allen Fixierungsmitteln gegen die Nucleoproteide am harmlosesten ist. In solchen Präparaten sind die blau und rot gefärbten Gegenstände im Kern voneinander sehr scharf abgetrennt, so das sie für Anfänger im Kerneinschlußstudium sehr empfehlenswert sind. Zugleich eignen sie sich zur Fixation des Histons (*Hamazaki*). Zur genaueren Erforschung des Feinbaus der Einschlüsse eignet sich jedoch *Müller-Eisessig*-Fixation, weil der Zellkern dabei wenig schrumpft und auch die granuliert Struktur der Einschlüsse ausgeprägt zutage tritt.

Bei dieser Fixierung leuchtet manchmal der Zentralteil der Einschlüsse in gelbem Ton. Ein scharfer Hohlraum grenzt den Einschluß vom Chromatin ab, aber gelegentlich findet sich ein kleines blau gefärbtes Fetzchen, welches am Rand des Einschlusses käppchenartig angehaftet ist, oder, wenn auch selten, ein blaßviolett

tingiertes schleierartiges Gebilde im Kerneinschluß. Bei Formol-Fixierung sind diese Einschlüsse zu schwach azidophil, als daß die kleineren auffielen.

Die *Feulgensche* Reaktion der Einschlüsse fällt stets negativ, dagegen die des käppchenartigen Anhängsels oft positiv aus. *Mannsche* Methode zeigt die Einschlüsse als rote bis violette Körperchen, hat aber den Nachteil, daß sie die Kernkörperchen und sogar die Kernfragmente in demselben Ton färbt. Bei Triazid-Färbung färbt sich die Randpartie der Einschlüsse grünlich, während der Zentralteil schön in Fuchsinrot leuchtet. Immerhin gibt es zuweilen diffus blaßgrünlich sich färbende Kerneinschlüsse. Mit Karbolfuchsin-Jod Methoden lassen sich keine Kerneinschlüsse färben. In der Regel leuchten sie bei Histonnachweis (Brillant-Azurin B-Färbung) als ganz blasse glasige oder silbergraue Körperchen. Gelegentliche blau gefärbte Einschlüsse sind nichts anderes als künstliche Prokulte, da sie nur in ungenügend fixiertem oder gequetschtem Gewebe vorhanden sind. Durch Globulinnachweis mittels Safranin-Tanninsäure-Färbung (*Unna*) sind die Kerneinschlüsse nicht tingierbar, dagegen nehmen die Kernkörperchen und Kernfragmente eine dick bräunlich-rötliche Nuance an. Auch Anilinwasser-Dahlia-Methode tiegiert sie nicht. Bei Kernechtrot-Methylgrün-Färbung tingieren sie sich grünlich. Mit *Giemsa*-Lösung färben sie sich grünlich gelblich, bei der *May-Grünwaldschen* Methode violett und erst bei der Eosin-*Giemsa*-Methode rötlich. Was die Färberesultate der Ausstrichpräparate betrifft, so möchte ich in der nächsten Mitteilung näher darauf zu sprechen kommen. Eisenreaktion in Form der Berlinerblausynthese fällt bei den Kerneinschlüssen ganz negativ aus. Bei *Ciaccioscher* Methode findet man in ihnen keine Lipode.

Über die anatomische Verteilung der Kerneinschlüsse: Die Kerneinschlüsse kommen ausgeprägt im Epithel des Plexus chorioideus und in den Gliazellen zum Vorschein. In den Nervenzellen findet man keine Einschlüsse, abgesehen von einigen fraglichen Gebilden. Außer im Gehirn treten sie interessanterweise in den Riechdrüsenzellen der Nasenschleimhaut auf. Die Beschaffenheit der Kerneinschlüsse möchte ich nach den Zellarten beschreiben, weil die Einschlüsse je nach ihrer Lokalisation ein etwas verschiedenes Aussehen besitzen.

Die Chorioidea zeigt als Zeichen der Reizung oder Entzündung nur geringe Hyperämie, Infiltration einiger Lymphozyten und Monozyten, selten geringfügige Fibrinausschwitzung und Abschilfern der Epithelzellen. Der Grad der durch die Entzündung hervorgerufenen Veränderungen ist weit geringer als bei der Hirnsubstanz. Es kann wohl gar nicht bezweifelt werden, daß es sich dabei um keine Choriomeningitis handelt.¹⁹ Die Epithelzellen der Chorioidea führen meist einen gröberen (3–8 μ), rundlichen oder ovalen Kerneinschluß. Obwohl sich individuelle Verschiedenheiten finden, sind die Kerneinschlüsse der Chorioidea doch stets größer und reichlicher als die der Glia.

Bei den Fällen, bei welchen klinisch ausgeprägte Symptome festgestellt werden konnten, führen etwa 2/3 und mehr der Epithelzellen der Chorioidea typische Kerneinschlüsse. Die allein vorkommenden Kerneinschlüsse sind gewöhnlich gröber und erreichen selten bis 8 μ . Gelegentlich kann man 2–3 Einschlüsse in einem Kern finden, diese sind gewöhnlich kleiner und jeder von ihnen ist von einem schmalen Hohlraum umgeben. Durch Volumzunahme der Einschlüsse werden die Hohlräume auf Kosten der Chromatinsubstanz immer größer, und die Kernmembran wird mehr und mehr ausgedehnt, bis sie schließlich zum Bersten kommt. Sodann schrumpft sie

und der Kernraum wird immer heller. Die gröbere Einschlüsse führenden Kerne werden gelegentlich nekrotisch und es kommt sogar zum Kernschwund. In der Regel



Abb. 2. Plexus chorioideus d. Maus Nr. 123, (Sato-Stamm). Dasselbe Bild wie Abb. 1. (Sublimat-Alkohol. H-E-Färbung. Kameralänge, 38 cm)

finden sich Kerneinschlüsse weder extranukleär noch extrazellulär, wenn sie auch durch die eben beschriebenen schweren Kernschädigungen extrazellulär befreit werden können, indem sie schnell ihre Azidophilie zu verlieren scheinen, und schließlich zugrunde gehen.

Unter den Hirngeweben bevorzugen die Kerneinschlüsse Gliazellen, insbesondere Oligodendroglia. Im chromatinreichen Kern der letzteren tritt der perikorpusculäre Hohlraum sehr scharf auf, dessen Lumen wie das der Makroglia nicht sehr groß ist. Die Kerneinschlüsse sind ziemlich groß, rundlich und meist allein vorhanden. Der betroffene Kern zeigt überhaupt keine schweren Veränderungen außer Volumzunahme und Kernwandhyperchromatose. Dagegen findet man in den Makroglia (faserbildende und protoplasmatische Glia nach *Cajal*) nicht so schöne Kerneinschlüsse wie in den Oligodendroglia. Kerndegenerationen finden aber deutlich statt, so z.B. Kernanschwellung und Entmischung des Chromatins (*Hamazaki*). Allmählich wird der Kerninnenraum heller und es bleibt nur eine dünne Schicht des Chromatins an der Innenseite der Kernmembran zurück. Solch ein Kern nimmt das Aussehen der Chromatinauslaugung an. Es ist aber von den gewöhnlichen Chromatinauslaugungen zu unterscheiden, soweit der Chromatinschwund ohne die Schädigungen der Kernmembran schon früh einhergeht. Daher habe ich einstweilen einen solchen Kern zur Unterscheidung von der Chromatinauslaugung als „Hohlkern“ bezeichnet. Der

Hohlkern ist sehr ausgeprägt bei infizierten Tieren, aber er ist nicht ganz spezifisch, sondern es findet sich auch gelegentlich ein ähnliches Bild bei den Kontrollen.

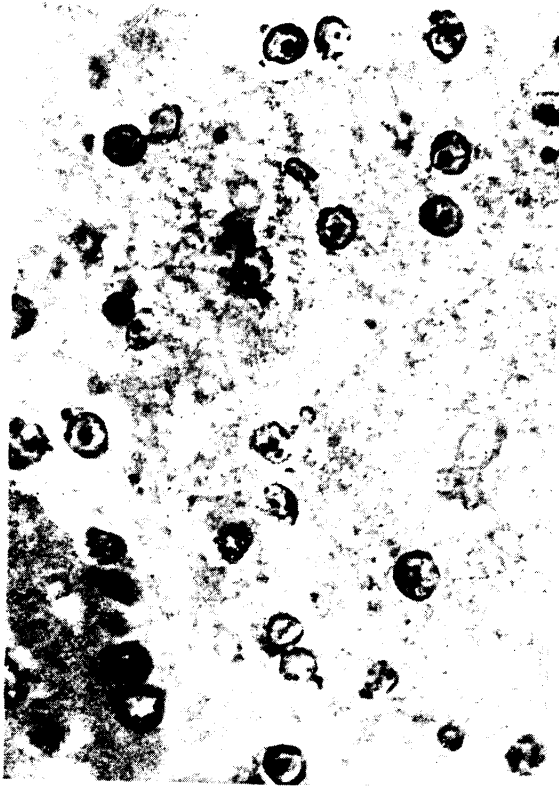


Abb. 3. Gliaherd im Corpus callosum d. Maus Nr. 11. Scharf begrenzte tiefrote Kerneinschlüsse in vielen Oligodendroglia. (Cu-Alkohol, H-E-Färbung, Kamera-länge, 38 cm)

Ein Teil der Hohlkerne zeigt Einschlüsse, welche klein ($1,5-3\mu$), unscharf begrenzt und am Rand leicht zackig sind. Oft sind einige oder mehrere feine acidophile Granula in einem Kern gruppiert, die sich mehr oder weniger aneinanderschmiegen, ein Befund, der sich beim Stamm von St. Louis etwas deutlicher zu ergeben scheint. Man erhält dabei den Eindruck, daß die kleinen Einschlüsse im großen Hohlraum des Kerns suspendiert und manchmal wie durch Anziehungskraft an die Kernwand angehaftet sind. Im allgemeinen treten die Kerneinschlüsse reichlicher in faserbildenden Gliazellen als in protoplasmatischen auf, während der Hohlkern bei letzteren sehr auffallend ist.

Die *Bergmannschen* Zellen, welche sich in der *Purkinje*zellenschicht anordnen und als eine Art Makroglia erkannt werden, werden wie die Epithelzellen der Chorioidea von den Kerneinschlüssen sehr bevorzugt. Bezüglich der Form und Größe bilden die hier auftretenden Einschlüsse im allgemeinen Zwischenformen zwischen den Einschlüssen der Oligodendroglia und denen der Makroglia. Ein Teil der *Bergmannschen* Zellen schließt je einen relativ großen Einschuß in sich ein, welcher fest gebaut und durch den Hohlraum von der hyperchromatischen Kernmembran scharf abgesetzt ist. Dieselben Zellen führen z. T. kleine Einschlüsse in schmalen Hohlräumen, welche sich im sonst nicht wesentlich veränderten Kern finden. Bei einem Teil derselben schwillt der Kern unter Chromatinschwund des zentralen Teils



Abb. 4. Molekularschicht d. Ammonsorns d. Maus Nr. 43 (St. Louis-Stamm). (a) Einschluß in blasig angeschwollenem Makroglia-kern. (b) Granulierte Kerneinschlüsse. (c) Beim Bersten d. Kernmembran zerfallende Kerneinschlüsse. (Müller-Eisessig, H·E-Färbung, Kameralänge, 25 cm)

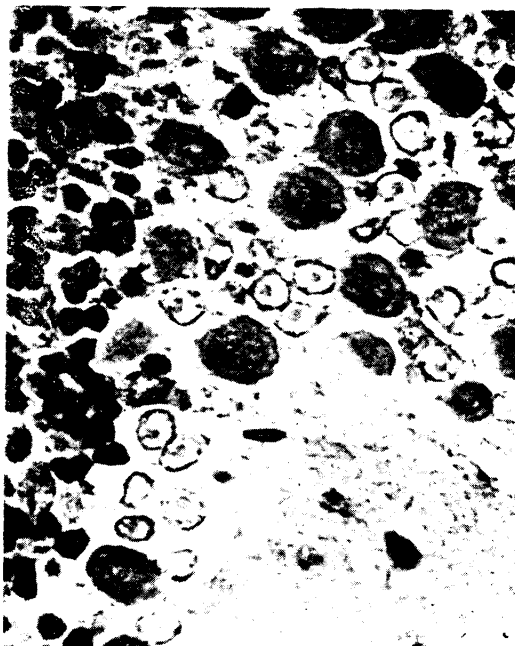


Abb. 5. Kleinhirnrinde d. Maus Nr. 33. Zwischen d. *Purkinje*-schen Zellen finden sich zahlreiche Kerneinschlüsse d. *Bergmann*-schen Zellen. (Formol, H·E-Färbung, Kameralänge, 38 cm)

und nimmt allmählich das Aussehen eines Hohlkerns an, indem er einige feine, schwach azidophile Körperchen in sich gruppiert und verbirgt. Auch ein wenig charakterisiertes Bild sieht man manchmal, welches bei zentraler Aufhellung des Kerns eine Anzahl von rosaroten feinen Granula zeigt. Es ist besonders zu beachten, daß



Abb. 6. Kleinhirnrinde d. Maus Nr. 42 (St. Louis-Stamm). Ähnliches Bild wie Abb. 5, mit einer dunkel gefärbten *Purkinjeschen* Zellen. (Cu-Alkohol, H.E.-Färbung, Kameralänge, 40 cm)

wie oben erwähnt, obwohl in den *Bergmannschen* Zellen die Kerneinschlüsse vorzugsweise zum Vorschein kommen, sie doch in anderen Gliazellen der verschiedenen Kleinhirnpartien wenig auftreten. Die *Fananzellen*, die morphologisch mit der *Bergmannschen* Zellen zu derselben Kategorie gehören, bilden keine Ausnahme davon. Jedoch scheint mir bei ganz jungen Mäusen bezüglich der Verteilung der Kerneinschlüsse eine ziemlich große Abweichung von den erwachsenen zu bestehen (s. näheres in der nächsten Mitteilung).

Bei den *Hortegaschen* Gliazellen findet man am wenigsten Kerneinschlüsse. In diese Zellen sind die Einschlüsse meist sehr klein (1-3 μ) und 2-3 Körperchen ordnen sich nach der Längsachse des Kerns an, indem sie einzeln mit je einem kleinen Hohlraum umschlossen sind. Sind zwei relativ große Einschlüsse in demselben Kern vorhanden, so entsteht ein hantelförmiger Kern, indem er entsprechend der Lokalisation der Einschlüsse kleine Anschwellungen bildet.

In den übrigen Gehirngeweben (z. B. Ependym, Gefäßwandzellen sowie Adventitia) findet man in der Regel keine Einschlüsse. Beim Bersten der Kernwand oder bei Kernnekrose der Gliazellen können die Einschlüsse gelegentlich in die Hirngrundsubstanz übergehen, wenn dieses Phänomen auch selten ist. Das gleiche Schicksal teilen, wie schon besprochen, die frei gewordenen Einschlüsse vielleicht mit denen der Corioidea. Appliziert man Impfmateriale intrakranial, so findet man manchmal in subarachnoidealen Reticulumzellen oder Endothelien die analogen Kerneinschlüsse.

Ein sehr interessantes Bild bieten die Riechdrüsen (*Bowmanschen Drüsen*) der Nasenschleimhaut. In den Drüsenzellen konnte ich ähnliche Kerneinschlüsse wie im Gehirn sehr reichlich feststellen. Sie sind rundlich, scharf begrenzt, 1,5–4 μ groß, und mäßig azidophil. Der zwischen dem Einschluß und der Chromatinsubstanz befindliche Hohlraum ist nicht so deutlich wie im Gehirngewebe und die Einschlüsse stehen in etwas innigerem Zusammenhang mit der Chromatinsubstanz. Kernwandhyperchromatose und Hohlkern trifft man hier nicht so oft wie im Gehirn. Die Ein-



Abb. 7. Submukosa d. Riechschleimhaut d. Maus Nr. H-36. Grobe Einschlüsse (x) in den Kernen d. Riechdrüsenzellen, die getrübt und angeschwollen sind. Müller-Eisessig. H·E-Färbung, Kameralänge, 40 cm)

schlüsse finden sich reichlicher im Kaudalteil der Schleimhaut als im Rostalteil. Die Drüsenzellen sind meist angeschwollen und sogar granulös zerfallen. Die Riechdrüsen sitzen, wie bekannt, dicht um die Fila olfactoria anliegend, was mir auf eine große Bedeutung für die Infektionswege der Enzephalitiden hinzudeuten scheint; eingehendere Experimente darüber sind noch im Gange. Neuerdings hat *Nagahara*²⁰ die Riechschleimhaut von mit epidemischer Encephalitis infizierten Mäusen untersucht und kam zu dem Schlusse, daß die Veränderung der Schleimhaut dieselbe ist, wie die beim akuten Stadium des Schnupfens und die *Bowmanschen Drüsen* zeigen keine Veränderung.

Besprechung.

An Hand ganz unspezifischer Färbung allein, wie z. B. von Hämatoxylin-Eosin Färbung, *Mannscher Färbung* etc., (insbesondere die

letztere ist wegen der Rotfärbung der Nukleolen sehr irreführend und zeigt sogar in degeneriertem Nervengewebe allerlei Gebilde, welche von Unerfahrenen mit Einschlußkörperchen verwechselt werden können), einen Zelleinschluß für virusspezifisch zu halten, ist nicht möglich (*Luckesch, Creutzfeld*). Auf grund unserer karyopathologischen Erfahrungen und auch gemäß der Warnung der bisherigen Einschlußforscher möchte ich die im folgenden zusammengestellten wesentlichen Bedingungen in Vorschlag bringen.

1. Erheblich hoher Prozentsatz positiver Resultate bei den Versuchstieren. 2. Absolut negative Resultate bei den Kontrollversuchen. 3. Eine bestimmte, ziemlich beschränkte anatomische Lokalisation der Einschlüsse. 4. Daß kein unmittelbarer Zusammenhang der Kernsubstanz besteht, ist durch histochemische Methoden klar zustellen. 5. Klare Unterscheidung von den schon bekannten virus-spezifischen Einschlüssen. 6. Darstellung der unmittelbaren Beziehung zu den Viruskörperchen ist erwünscht.

Keine von den bisherigen Beschreibungen, die die Einschlüsse bei den japanischen sowie amerikanischen epidemischen Enzephalitiden behandelten, erfüllt diese Bedingungen auch nur annähernd.

Obschon die vorliegende Untersuchung noch im Gange ist, läßt sich nach den bis heute erhaltenen Ergebnissen bereits folgendes sagen: 1) Bei allen Mäusen, die nach dem Impfversuch die Symptome der epidemischen Encephalitis boten, wurden die Kerneinschlüsse sehr deutlich beobachtet. 2) Bei den Mäusen, die nach der Impfung ohne Hervorbringung bemerkbarer Hirnsymptome verendeten (die meisten dieser Mäuse wurden frühmorgens tot gefunden, es kann sein, daß sie während der Nacht erkrankt waren), wurden die Kerneinschlüsse bei 96,6% (28 unter den 29 Fällen) festgestellt. 3) Bei den Mäusen, die auch nach mehr als 9 Tagen nach der intrakranialen oder intranasalen Impfung noch keine Hirnsymptome gezeigt hatten und dann getötet wurden, konnte man die Einschlüsse in keinem einzigen Falle beobachten. Das traf auch bei allen Kontrollfällen zu.

Die Kerneinschlüsse traten in den Epithelzellen der Chorioidea und den *Bergmannschen* Zellen der *Purkinje*zellenschicht am häufigsten auf. Teilt man die Mäuse wiederum wie oben ein, so wurden bei der 1. Gruppe die Einschlüsse in der Chorioidea bei 100% und in den *Bergmannschen* Zellen bei 96,2% aufgefunden. Bei der 2. Gruppe wurden sie in der Chorioidea bei 96,6% und in den *Bergmannschen* Zellen bei 89,3% festgestellt.

Die Einschlußkörperchen sind außerdem auch im Kern der Riechdrüsen und im Gliakern des Lobus piriformis, des Bulbus olfactorius des Ammonshorns, des Zwischenhirns, des Pons, des Rückenmarks,

usw. zu finden: je nach der Dichtigkeit der Einschlüsse lassen sich die genannten Gewebe ebenso wie oben der Reihe nach anführen.

Auf die Zelleinschlüsse und auf die ihnen verwandten Gebilde, über die unsere Vorgänger bereits berichteten, möchte ich hier kurz eingehen, weil die bei der Encephalitis epidemica auftretenden Kerneinschlüsse, über die von mir neu zu berichten ist, streng davon unterschieden werden müssen. Die Einschlüsse, die *Taniguchi* im Hornhautepithel der mit dem Virus der Encephalitis geimpften Kaninchen aufgefunden hat, gleichen den *Guarnierischen* Körperchen und sind darum ganz andere als die unsrigen. Ferner will *Takase* bei encephalitischen Mäusen Kerneinschlüsse beobachtet haben. Obschon in seiner Beschreibung noch manche morphologische Unklarheiten herrschen, sollen in den Ganglienzellen zytoplasmatische und intranukleäre Einschlüsse vorhanden sein, welche noch in den die Nervenzellen umhüllenden Lumen, in der Blutgefäßwand, im perivaskulären Raum und in der Hirngrundsubstanz in freier Form zerstreut oder massenweise zu finden sind. Später hat auch *Ikeda*, über eigenartige Zelleinschlüsse, welche sich in Gliazellen, Ganglienzellen, Epithelzellen des Adergeflechts, Epithelzellen der Pia mater und sogar in Milz, Leber, Niere und Lunge finden, berichtet. Ihre Lokalisation wie ihre Gestalt sind damit wenig charakterisiert, daß er sie mit den *Lipschützchen* oder *Torresschen* oder auch *Joest-Degenschen* Körperchen vergleicht. Die Einschlüßkörperchen, die ich aufgefunden habe, finden sich nur im Kern und kommen nie anderswo in freier Form massenweise vor; sie sind also weder in der Blutgefäßwand noch in den Ganglienzellen zu treffen. Es handelt sich vielmehr um auffallend spezifische Kerneinschlüsse insoweit, als sie mit besonderer Vorliebe in den Epithelzellen der Chorioidea, den *Bergmannschen* Zellen und den Riechdrüsenzellen in Erscheinung treten, während sie Ganglienzellen meiden.

In Frankreich und England haben *Nicolau*, *Kopciowska*, *Galloway* und *Balmus*²¹ bei gesunden Mäusen in den Nervenzellen der *Negrischen* Körperchen ähnliche Körperchen gefunden. Ferner haben *Cowdry* und *Nicholson* über die den obengenannten Einschlüssen ähnlichen berichtet, welche bei spontaner Encephalitis durch die *Mannsche* Färbung gelegentlich sichtbar gemacht werden sollen. Die von mir beschriebenen Einschlüsse sind aber von den *Negrischen* Körperchen wesentlich verschiedenen. Die Einschlüsse, welche bei der Einführung des bei Kaninchen ausgiebig erprobten Virus III (*Rivers* und *Tillett*)^{22, 23} auftreten, besitzen zwar in Form und Verteilung mit unseren Einschlüssen eine große Ähnlichkeit; andere Laboratoriumstiere aber (Affen, Meerschweinchen, Mäuse) sind dem Virus III gegenüber unempfindlich. Ebenso sind die herpessspezifischen Einschlüsse den

unsrigen einigermaßen ähnlich; die Herpesencephalitis jedoch verläuft bei der Maus nur levis und ist entweder nicht imstande, so deutliche Einschlüsse wie beim Kaninchen zu bilden (*Schaefer*)²⁴ oder sie ruf sie nur in wenigeren Fällen hervor (*Akazaki*).²⁵ Auf Grund der mikroskopischen Befunde an den Einschlüssen selbst sind folgende Unterschiede feststellbar: daß herpesspezifische Einschlüsse manchmal das innere Lumen des Kerns lückenlos ausfüllen und daß die *Feulgensche* Reaktion und die Eisenreaktion bei ihnen positiv verlaufen (*Cowdry*).²⁶ In allen Fällen sind unsere Einschlußkörperchen eher durch die spezielle Verteilung als durch die Form ausgezeichnet. Besonders muß die Eigentümlichkeit hervorgehoben werden, daß die Riechdrüsenzellen Kerneinschlüsse zeigen, welche denen des Hirns analog sind, eine Tatsache, die sich bei anderen Viruskrankheiten bis jetzt niemals nachweisen ließ. (s. Abb. 3. der I. Mitteilung)

Es ist wohl allgemein bekannt, daß bei verschiedenen Kerndegenerationen unspezifische Kerneinschlüsse unabhängig von den hier in Betracht kommenden Viruskrankheiten gebildet werden. Im Anfang ihrer Entstehung kann man den Vorgang des unmittelbaren Überganges der Kernsubstanzen, insbesondere der Kernkörperchen oder Chromatinknoten in die Kerneinschlüsse verfolgen. Auch nach der Vollentwicklung stehen die Kerneinschlüsse zu der Kernsubstanz in einer bestimmten Beziehung. Dabei verdient der Befund, daß sie ebenso wie die Kernkörperchen die sie bedeckende Chromatinmembran oder Chromatinschale besitzen, besondere Beachtung. Zu dieser Art von Kerneinschlüssen gehören die Einschlußkörperchen, welche bei verschiedenen Leberkrankheiten im Kern der Leberzellen entstehen (*Tamura*).²⁷ Ferner sind dazu auch die Nukleolarbläschen, die von *Berg*²⁸ und *Meyer*²⁹ entdeckt wurden, die Spindelkörperchen (*Hamazaki*) in den Gekrösedrüsen und die meisten der Einschlußkörperchen, welche sich bisher in Krebszellen nachweisen ließen, zu rechnen.^{30, 31} Bei den vorliegenden enzephalitischen Einschlüssen könnte man dagegen zu der Annahme neigen, daß sie, nachdem sie im Kern gebildet worden sind, fortwährend auf Kosten der Chromatinsubstanz heranwachsen und daß sie das von ihnen aufgelöste Chromatin als Nahrung aufnehmen. Darum kann ich mich der Annahme, die die spezifischen Einschlußkörperchen für ein Produkt der oxychromatischen Kerndegeneration hält (*Luger* und *Lauda*)³³ oder die *Guarnierischen* Körperchen als die infolge der Degeneration miteinander verschmolzenen Nukleolen betrachtet, durchaus nicht anschließen.

In der letzten Zeit stellten *Taniguchi*,³⁴ *Haagen* und *Kodama* bei der Untersuchung der *Guarnierischen* Körperchen eine Prüfung mit der *Feulgenschen* Reaktion an und äußerten sich dahin, daß bei diesen Körperchen die genannte Reaktion positiv ausfalle, während die

Paschenschen Körperchen negative Reaktion auslösten.⁴² Nach *Akazaki*, der mit Herpesvirus Versuche angestellt hatte, soll bei den Kerneinschlüssen die *Feulgensche* Reaktion stets positiv ausgefallen sein. Die Ergebnisse dieser Autoren weisen zwar darauf hin, daß die Einschlüßkörperchen zu der Kernsubstanz in einer bestimmten Beziehung stehen: die *Feulgensche* Reaktion jedoch ist dafür zu schwach und unbestimmt, als daß die Einschlüsse auf Grund der genannten Ergebnisse gleich als das Degenerationsprodukt der Kernsubstanz angesprochen werden könnten. Es würde indes auch übereilt sein, auf Grund vollständig negativen Ausfalles der *Feulgenschen* Reaktion (ein Beispiel dafür sind die *Negrischen* Körperchen) einfach anzunehmen, daß die Einschlüßkörperchen zu der Kernsubstanz in keiner Beziehung stünden (*J. Koch*).³⁶ Diese Annahme ist dadurch bedingt, daß die *Feulgensche* Reaktion nur bei der Thymonukleinsäure, welche als eine Komponente der Nukleoproteide vorhanden ist, positiv ausfällt (*Hamazaki*).³⁷ Um mich von diesen fehlerhaften Schlußfolgerungen fern zu halten, habe ich mich bei der Untersuchung meiner Einschlüßkörperchen der von mir aufgestellten, systematisierten, karyopathologischen Forschungsmethode bedient und die Nukleoproteide durch Anstellung der *Feulgenschen* Reaktion, die freie Thymonukleinsäure bzw. die Purinderivate durch Anwendung der Karbolfuchsin-Jod-Methode, das Histon durch Benutzung der Brillant-Azurin-B-Methode und schließlich das sogenannte Nukleoglobulin (*Unna*) mittels Safranin Tanninsäure-Verfahrens untersucht; in allen Fällen fiel die Reaktion negativ aus. Gestützt auf diese Ergebnisse fühle ich mich nun dazu berechtigt, im Gegensatz zu den bisherigen Forschern, die, sich einzig und allein auf die *Feulgensche* Reaktion stützend, die Beziehungen zwischen den Einschlüssen und der Kernsubstanz diskutierten, eine direkt Beziehung zwischen beiden in Abrede zu stellen. Es sei aber bemerkt, daß bei Anwendung der Hämatoxylin-Eosin-Färbung am Rand der Einschlüßkörperchen, wie oben bereits erwähnt, gelegentlich käppchenartige basophile Substanzen angenagt in die Erscheinung treten. Wenn diese Substanzen die *Feulgensche* Reaktion auch nur schwach positiv ergeben, so muß man doch aus ihrer Form den Schluß ziehen, daß es sich hier nur degenerierte, nur physikalisch den Einschlüssen anhaftende Chromatinsubstanzen handelt. Dieses mikroskopische Bild kommt bei den Schnittpräparaten nur selten vor, während es bei den Ausstrichpräparaten eine häufige Erscheinung ist, was den Verdacht auf künstliche Bildungen größer macht. Die schleierartige, fein punktierte, basophile Masse jedoch, welche bei Anwendung der *Giemsa*-färbung an Ausstrichpräparaten um die Einschlüßkörperchen herum auftritt, reagiert sowohl bei *Feulgenscher* als auch bei Karbolfuchsin-Jod-Methode negativ,

eine Tatsache, die die Annahme nahe legt, daß diese Masse bei der Entstehung der Einschußkörperchen eine wichtige Rolle spielt (näheres siehe die nachfolgende Mitteilung!).

Soweit die Kerneinschlüsse, die ich hier beschreibe, ein spezifisches Gebilde der Encephalitis epidemica darstellen, kann es in Anbetracht der Geschichte der bisherigen Virusforschung keinem Zweifel unterliegen, daß die Einschlüsse zu der Infektion mit dem enzephalitischen Virus in einer besonderen Beziehung stehen. Auf diesem Gebiete stehen heute drei Lehren im Vordergrund: die eine hält die Einschlüsse für Reaktionsprodukte des Zellkerns bei der Virusinfektion, die andere betrachtet sie als agglutinierte Masse der Viruskörperchen selbst und wieder eine andere deutet sie als Vereinigung der Reaktionsprodukte des Kerns mit dem Viruskörperchen. Man darf aber bei meinen Ergebnissen, die durch Anwendung der oben beschriebenen karyopathologischen Untersuchungsmethode gewonnen worden sind und viel größere Wahrscheinlichkeit besitzen, als die Ergebnisse der bisherigen Autoren, die erste Annahme von vornherein ausschließen. Die dritte Annahme ist zwar einiger Überlegung wert, die Menge der beigemischten Kernprodukte aber ist so gering, daß man sich zur Annahme gezwungen fühlt, daß sie durch Zufall eingedrungen seien. Die Ergebnisse der *Giemsafärbung* der Ausstrichpräparate, die voraussichtlich in der nächsten Mitteilung veröffentlicht werden, lassen es denkbar erscheinen, daß es sich hier um nach der Degeneration agglutinierte Viruskörperchen handelt (Nicolau).³³

Es ist indes ohne weiteres klar, daß die Viruskörperchen nur unter bestimmten Bedingungen Einschußkörperchen bilden. Wenn das Milieu nicht passend ist, können sie wohl keine Einschlüsse bilden. Das ist wohl der Grund, warum ich bei der Encephalitis epidemica keine typischen Kerneinschlüsse in den Ganglienzellen auffinden konnte. Immerhin liegt es aber auf der Hand, daß die Ganglienzellen von Virus angegriffen werden. Die Einschußkörperchen finden sich in der durch Entzündung reagierenden Neuroglia des Hirngewebes verhältnismäßig selten, während sie in den Gliakernen, die diffus vermehrt und relativ ruhig sind, reichlich zutage treten. Man erkennt, daß die *Guarnierischen* Körperchen 2-3 Stunden nach der Vakzininfektion, wo im Gewebe noch keine Veränderung wahrnehmbar ist, in Erscheinung treten. Joest, Zwick und Seifried³⁹ stellten bei der *Bornaschen* Krankheit eine eingehende Untersuchung an und konnten unumstößlich nachweisen, daß die Einschußkörperchen unabhängig von der Entzündungs-Reaktion und der Degeneration entstehen. Der gleiche Befund wurde auch bei Gelbfieber und Herpes beobachtet. Was das ursächlichste Moment für die Entstehung die-

ser Erscheinungen anbetrifft, so sind darüber die Ansichten zur Zeit noch geteilt. Um nur ein Beispiel herauszugreifen, gibt *Haagen*⁴⁰ an, daß bei der Virusinfektion ein Teil des Virus extrazellulär und mehr diffus wächst und im Gewebe Entzündung hervorruft, während ein anderer Teil des Virus sich nur intrazellulär entwickelt und endlich die Einschlüßkörperchen bildet. Diese Angabe beruht selbstverständlich auf bloßer Mutmaßung. Ich für meine Person lege, wie oben gesagt, besonderen Wert auf die Milieus.

In entzündlichen Herden erfahren die Kerneinschlüsse zusammen mit den Geweben bestimmte regressive Veränderungen. Bei karyolytischer Degeneration werden die Einschlüsse allmählich blässer und von kleinen Vakuolen durchsetzt, um schließlich in kleine unregelmäßige Schollen zu zerfallen. Die Degeneration eines Kerns und seines Einschlusses geht ungefähr parallel, so daß, wie schon gesagt, nur ausnahmsweise ein scharf konturierter Einschluß in der Grundsubstanz des Gehirns zurückbleibt.



Abb. 8. Gliaherd im Thalamus d. Maus Nr. 33. Blasig angeschwollene sechs Oligodendrogliakerne mit deutlichen Kerneinschlüssen. Dazwischen dunkle pyknotische Oligodendrogliakerne mit sichtbaren oder kaum sichtbaren Kerneinschlüssen. Weder Ganglienzellen noch Hortegazellen führen Kerneinschlüsse. (Formol. H•E-Färbung, Kameralänge, 30cm)

In den Gliaknoten, welche weit seltener als bei Menschenencephalitis vorkommen, sieht man spärliche scharf konturierte Einschlüsse, forscht man aber genauer, so zeigen sich häufig die in blasse Schollen

zerfallenden Einschlüsse in schwer geschädigten aufgeblähten Zellkernen. Bei pyknotischen Veränderungen der Kerne werden die Hohlräume um die Einschlüsse enger und enger, und die Ränder der Einschlüsse sehr unscharf. Dann folgt Verschmelzung der Einschlüsse mit der hyperchromatischen Kernwand, indem bei fortgeschrittener Degeneration nicht charakteristische, rötlichviolett gefärbte, homogene Zentren der Kerne zutage treten. Im peripherischen Gebiete der Gliaknoten kommen dagegen viele typische Kerneinschlüsse in der vermehrten Gliazellen zum Vorschein. Es ist also eigentlich kein Wunder, daß man schön gebildete Kerneinschlüsse nicht in den Gliazellen der Knoten, sondern vorwiegend in diffus vermehrten Gliazellen trifft. Was die seltene Anwesenheit der Einschlüsse in der Hirnrinde betrifft, so muß man in Betracht ziehen, daß die Einschlüsse in den Makroglia überhaupt schwer gebildet werden.

Die *Bergmannschen* Zellen, welche merkwürdigerweise bisher die Aufmerksamkeit der Encephalitisforscher wenig erregten, zeigen tatsächlich ziemlich auffallende regressive Kernveränderungen im Zusammenhang mit der Einschlufbildung: blasige Aufblähung bzw. Hohlkern, Faltenbildung der Kernmembran, Kernschwund u. s. w. Warum die Kerneinschlüsse sehr deutlich im Chorioideaepithel in die Erscheinung treten, möchte ich einstweilen offen lassen. Aber andere virusspezifische Einschlüsse bevorzugen auch das Chorioideaepithel, was vielleicht zu seiner Abwehrkraft in einer bestimmten Beziehung steht.

Schlußfolgerungen.

1. Durch Anwendung meiner karyopathologisch-histochemischen Untersuchungsmethode konnte ich im Hirngewebe sowie in der Nasenschleimhaut der Mäuse, die an japanischer bzw. amerikanischer Encephalitis epidemica erkrankt waren, spezifische Kerneinschlüsse, die keine Kernsubstanz enthielten, auffallend deutlich nachweisen.

2. Sie treten als azidophile, fest gebaute gröbere leuchtende Körperchen in die Erscheinung und sind örtlich dadurch charakterisiert, daß sie in den Kernen der Epithelzellen des Plexus chorioideus, der Gliazellen, (insbesondere der *Bergmannschen* Zellen) und der Riechdrüsenzellen eingeschlossen sind.

3. Meine Methode lieferte die recht befriedigenden Ergebnisse, daß wir die Einschlufkörperchen bis zu 100% auffinden konnten und daß sie auch ermöglichte, die in Betracht kommenden Einschlüsse von den bisher schon festgestellten anderen Zelleinschlüssen leicht und sicher zu unterscheiden.

4. Bei praktischer Diagnose der von mir gefundenen Kerneinschlüsse

lüsse der epidemischen Encephalitis ist zu beachten, daß die Einschlüsse keine Kernsubstanzen enthalten und daß sie ihre auffallenden Prädilektionsstellen im Chorioideaepithel, den *Bergmannschen* Zellen und den Riechdrüsenzellen haben, während sie merkwürdigerweise die Ganglienzellen meiden.

Zum Schluß möchte ich es nicht unterlassen, Herrn Prof. Dr. Tanabe für die bereitwillige Ueberlassung des Versuchsmaterials sowie für seine freundlichen Belehrungen meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Gleicherweise fühle ich mich Herrn Prof. Dr. Hayashi, Herrn Prof. Dr. Kitayama, Herrn Prof. Dr. Seki und Herrn Prof. Dr. Kawamura für die Unterstützung mit Rat und Kritik zu grossem Dank verpflichtet.

Literatur.

- ²⁵ *Akazaki*, Arch. exp. Zellforsch. **20**, 89, 1937. *Baumgartner*, Zbl. Bakt., I. Org. **133**, 282, 1934. — ²⁸ *Berg*, Z. mikr.-anat. Forsch. **16**, 213, 1929. — ²⁶ *Cowdry*, Arch. Path. **10**, 23, 1930. — ¹⁸ *Cowdry* and *Nicholson*, J. exp. Med. **40**, 51, 1924. — ¹⁰ *Dawson*, Am. J. Path. **9**, 7, 1933. *Doerr* u. *Berger*, Handb. path. Microorganismen. **8**, 1415, 1930. — ¹³ *Feulgen*, Hoppe-Seylers Ztschr. f. Physiol. Chemis **135**, 203, 1924. — ¹¹, ⁴⁰ *Haagen*, Handbuch der Viruskrankheiten. Jena, 1939. — ³⁵ *Haagen* u. *Kodama*, Arch. exp. Zellforsch. **19**, 421, 1937. — ¹, ¹⁵, ¹⁷, ³⁷ *Hamazaki*, Y., Jap. Journ. of Med. Scienc. V. Path., **3**, 85, 1938. — ¹⁴ derselbe, Virchows Arch. **259**, 703, 1935. — ³¹ derselbe, Jap. J. Cancer Research **31**, 199, 1937. — ³⁰ derselbe, Virchows Arch. **301**, 491, 1938. — ³² derselbe, Jap. J. Cancer Reseach **32**, 914, 1938. — ¹² derselbe, Mitteil. Med. Gesell. zu Okayama, (Okayama I. Z.) **53**, Nr. 10, 1941. — ⁸ *Ikeda*, Osaka-Igakkai-Zasshi **37**, 2491 u. **38**, 449, 1938 – 1939. — ³⁹ *Joest*, *Zwick* u. *Seifried*, z. n. *Haagen*. — ¹⁹ *Kasahara*, etc. Kitasato Arch. of exp. Med. **16**, 24, 1939. — ⁶ *Kawamura*, Kitasato Arch. exp. Med. **13**, 281, 1936. — ³⁶ *Koch*, J. Handb. path. Microorganismen. **8**, 547, 1931. — ⁴¹ *Lipschütz*, Arch. Dermat. u. Syphilis **136**, 428, 1921. — ⁹ *Lucksch*, Zieglers Beitr. **71**, 201, 1922. — ³³ *Luger* u. *Lauda*, Med. Klinik S. 415, 459 u. 493, 1926. — ²⁹ *Meyer*, Z. Zellforsch. u. mikr. Anat. **24**, 665, 1936. — ⁴² *Mitamura*, etc., Trans. Societ. Path. Jap. **23**, 756, 1933. — ²⁰ *Nagahara*, Jap. Journ. of Med. Scienc. V. Pathal. **5**, 165, 1940. — ³⁸ *Nicolau*, z. n. *Haagen*. — ²¹ *Nicolau*, *Kopciowska*, *Galloway* u. *Balmus*, z. n. *Smadel* u. *Moore*. — ²² *Rivers* and *Tillett*, J. exp. Med. **40**, 281, 1924. — ²³ *Rivers* and *Stewart*, J. exp. Med. **48**, 603, 1924. — ²⁴ *Schaefer*, Zbl. Hyg. III, 536, 1930. — ² *Schmaus* u. *Albrecht*, Virchows Arch. **138**, 1, Suppl. 1894. — ⁴ *Smadel* und *Moore*, Am. J. Path. **10**, 827, 1934. — ⁷ *Takase*, Nippon-Izi-Shinpo Nr. 831, 1938. — ²⁷ *Tamura*, Mitteil. Med. Gesell. zu Okayama (Okayama I. Z.) Nr. 415, 1924. — ³⁴ *Taniguchi*, etc., Trns. Societ. Path. Jap. **23**, 777, 1933. — ⁵ *Taniguchi*, etc., Jap. J. exp. Med. **13**, 93, 1935. — ¹⁶ *Unna*, Histochemie d. Haut Leipzig, 1928. — ³ *Webster* and *Fite*, J. exp. Med. **61**, 103, 1935.